

VU Research Portal

Novel molecular imaging approaches in the management of head and neck cancer

Heuveling, D.A.

2014

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Heuveling, D. A. (2014). *Novel molecular imaging approaches in the management of head and neck cancer*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting, discussie en toekomstperspectieven

Dit proefschrift beschrijft twee klinische uitdagingen betreffende de diagnose en de behandeling van hoofd-halskanker: (1) de stadiëring van de klinisch negatieve (cN0) hals met de schildwachtklier (SWK)-procedure en (2) het verbeteren van de prognose van de individuele patiënt met behulp van systemische selectieve therapieën, de zogenoemde *targeted therapies*. Moleculaire beeldvormingstechnieken (bijvoorbeeld PET/CT en nabij-infrarood (NIR) fluorescente beeldvorming) kunnen een belangrijke rol spelen in het verbeteren van beide toepassingen. Moleculaire beeldvorming, zoals dat in dit proefschrift wordt beschreven, verschilt van traditionele beeldvorming omdat exogeen toegediende contrastmiddelen (tracers) gebruikt worden om bepaalde processen zichtbaar te maken.

Verbeteren van de stadiëring van de klinisch negatieve hals met behulp van de schildwachtklier-procedure

Een van de grootste uitdagingen bij de diagnostiek van hoofd-halskanker is het correct aantonen van zeer kleine (occulte) lymfekliermetastasen in de hals. In de inleiding van dit proefschrift (**hoofdstuk 1**) wordt geconcludeerd dat palpatie en conventionele technieken zoals echografie, CT, MRI, ¹⁸FDG-PET en echogeleide cytologische punctie van de hals onvoldoende betrouwbaar zijn om deze occulte lymfekliermetastasen aan te tonen. Vooral bij patiënten met een klein mondholtecarcinoom (T1-T2) is dit een probleem, omdat bij 30% van deze patiënten occulte metastasen aanwezig zijn. Wanneer de tumor via de mond (transoraal) kan worden verwijderd ontstaat er een dilemma over de behandeling van de hals: uitvoeren van een electieve halsklierdissectie betekent chirurgische overbehandeling voor 70% van de patiënten, terwijl een afwachtend beleid een risico geeft op onderbehandeling als er occulte metastasen aanwezig zijn.

De SWK-procedure heeft als doel om een betrouwbaar onderscheid te maken tussen patiënten die baat hebben bij het uitvoeren van een halsklierdissectie en patiënten waarbij een afwachtend beleid kan worden gevolgd. De SWK is de eerste lymfeklier die lymfeafvoer van de tumor ontvangt en deze zou daarom altijd een metastase moeten bevatten in het geval dat lymfogene metastasering heeft plaatsgevonden. Bij mondholtecarcinomen zijn vaak meerdere SWK-en aanwezig. De huidige SWK-procedure bestaat uit drie stappen: (1) preoperatieve identificatie van de SWK door middel van nucleaire beeldvorming; (2) excisie van de SWK met behulp van een mobiele gammaprobe en blauwe kleurstof; en (3) uitgebreide histopathologische evaluatie van de SWK door het stapsgewijs maken van weefselplakjes en het uitvoeren van aanvullende immunohistochemische kleuringen.

Ondanks de goede resultaten van de SWK-procedure bij kleine mondholtecarcinomen is er nog voldoende ruimte voor verbetering, in het bijzonder bij tumoren die in de mondbodem gelegen zijn. Voor patiënten met een dergelijke tumor wordt een (significant) lagere sensitiviteit en een negatief voorspellende waarde van de SWK-procedure gerapporteerd. Een verklaring hiervoor is het zogenaamde *shine-through*-fenomeen, waarbij de SWK als het ware overstraald wordt door de primaire tumor en daarom niet afzonderlijk gedetecteerd kan worden. Dit fenomeen is het gevolg van de korte afstand tussen de SWK en de tumor in de mondbodem in combinatie met de beperkte resolutie van de huidige beeldvormingstechnieken (gammacamera en SPECT/CT) waarbij de gammastraler technetium-99m

(^{99m}Tc , $t_{1/2}=6$ uur) gekoppeld aan het eiwit Nanocoll (^{99m}Tc -Nanocoll) wordt gebruikt als tracer. Slechts een klein gedeelte van de tracer zal worden opgenomen in het lymfesysteem, waardoor het grootste gedeelte achterblijft op de injectieplaats (in dit geval de mondbodem). Als gevolg hiervan is op de beeldvorming een grote *hotspot* te zien rond de injectieplaats. Ophoping van de tracer in een nabijgelegen SWK kan verborgen blijven achter deze grote *hotspot*, waardoor de SWK niet geïdentificeerd kan worden.

Identificatie van de SWK kan daarnaast bemoeilijkt worden door het soms complexe lymfogene drainagepatroon van mondholletumoren. Indien er meerdere *hotspots* zichtbaar zijn kan het lastig zijn een onderscheid te maken tussen de SWK en lymfeklieren van een hoger echelon. Visualisatie van de SWK en deze verderop gelegen lymfeklieren hangt af van de tijd die verstreken is tussen het moment van injectie en de beeldvorming, waarbij het aannemelijk is dat langere tijd na injectie lymfeklieren van een hoger echelon ook tracer zullen gaan bevatten en dus zichtbaar zullen zijn. De klinische consequentie hiervan is dat lymfeklieren soms ten onrechte worden verwijderd omdat ze aangeduid worden als SWK, terwijl het in werkelijkheid lymfeklieren van een hoger echelon zijn.

In **hoofdstuk 2** wordt de klinische waarde van een routinematig uitgevoerd lymfoscintigram op een laat tijdstip (2-4 uur na injectie van ^{99m}Tc -Nanocoll) geëvalueerd. Dit werd vergeleken met de resultaten van een (vroeg) lymfoscintigram dat direct na injectie werd gemaakt (de eerste 30 minuten). Bij 9 van de 60 patiënten werd de SWK alleen gezien tijdens het late lymfoscintigram, terwijl bij de overige 51 patiënten de SWK ook zichtbaar was op het vroege lymfoscintigram. Het late lymfoscintigram liet vervolgens bij 14 (27%) van de overige 51 patiënten extra *hotspots* zien, die geduid werden als SWK, waardoor de chirurgische procedure uitgebreider werd. Bij geen van deze patiënten hadden deze extra verwijderde SWK-en klinische consequenties: de op het vroege lymfoscintigram geïdentificeerde SWK-en voorspelden correct of lymfogene metastasering had plaatsgevonden. Uit deze studie bleek tevens dat drainage van de tracer bij andere tumorlokalisaties dan tong of mondbodem trager verloopt. Hetzelfde geldt voor tumoren die net naast of op de middenlijn gelegen zijn. Hierbij treedt vaak contralaterale drainage op die vaak pas laat zichtbaar wordt. Om het risico op fout-negatieve waarnemingen te minimaliseren zou bij patiënten met deze tumoren een lymfoscintigram op een laat tijdstip gemaakt moeten worden, terwijl voor de overige patiënten een vroeg lymfoscintigram volstaat. Indien geen SWK geïdentificeerd kan worden op het vroege lymfoscintigram is een laat lymfoscintigram wel noodzakelijk. Op deze manier kan onnodige extirpatie van lymfeklieren worden voorkomen en is de SWK-procedure minimaal invasief. Deze studie laat duidelijk zien hoe lastig het kan zijn om op basis van de huidige beeldvorming te differentiëren tussen een SWK en een lymfeklier van een hoger echelon. Daarnaast bleek dat slechts 55% van de geëxideerde SWK-en blauw kleurde, waarbij de overige 45% tijdens de operatie niet met het blote oog als SWK te identificeren waren.

Dit gebrek aan het intraoperatief kunnen identificeren van de SWK kan, zeker gezien de complexe anatomie van de hals, leiden tot uitgebreide chirurgische exploratie in een poging de SWK te vinden. Een postoperatief gevolg van uitgebreidere chirurgische exploratie is meer littekenvorming wat een eventueel hierop volgende halsklierdissectie kan bemoeilijken. Het niet kunnen identificeren van de SWK is vooral problematisch wanneer de SWK nabij de injectieplaats is gelegen (zoals bij mondbodemcarcinomen),

omdat de gammaprobe dan te veel last heeft van de hoge concentratie radioactiviteit rond de injectieplaats. De SWK kan mogelijk gemakkelijker worden geïdentificeerd tijdens de operatie door gebruik te maken van een mobiele SPECT-camera (*freehand* SPECT). Deze camera kan door middel van driedimensionale navigatie de SWK opsporen. **Hoofdstuk 3** beschrijft de eerste resultaten van het gebruik van deze camera bij 29 patiënten met een mondholtcarcinoom. De *freehand* SPECT kon intraoperatief 95% van de preoperatief geïdentificeerde SWK-en zichtbaar maken. Vier *hotspots* die op het preoperatieve lymfoscintigram geïdentificeerd werden als SWK konden tijdens de operatie niet geïdentificeerd worden. Drie hiervan bevonden zich in level Ib (bij drie afzonderlijke patiënten), twee van deze drie patiënten hadden een tumor in de mondbodem. De intraoperatieve detectiegraad van een SWK die in level Ib is gelegen was daarmee 75% bij mondbodemcarcinomen tegenover 88% bij tongcarcinomen. Hoewel de aantallen klein zijn lijkt het erop dat de *freehand* SPECT eveneens moeite heeft met de detectie van SWK-en die zich dicht bij de injectieplaats bevinden. Wel bleek dat bij 38% van de patiënten de informatie die de *freehand* SPECT tijdens de operatie gaf van toegevoegde waarde was voor het lokaliseren van de SWK. De *freehand* SPECT kan dus de mate van chirurgische exploratie verminderen, waardoor de kans op het ontstaan van fibrose afneemt. De toevoegende waarde van de *freehand* SPECT bij de SWK-procedure bij mondbodemcarcinomen dient nog verder onderzocht te worden in grotere studies.

Zoals hierboven aangegeven kan preoperatieve identificatie van een SWK welke zich dicht bij de injectieplaats bevindt bemoeilijkt worden door het *shine-through*-fenomeen, een gevolg van de beperkte resolutie van de gammacamera en SPECT/CT. Door een techniek met een hogere resolutie te gebruiken, zoals PET, zou een dergelijke SWK gemakkelijker geïdentificeerd moeten kunnen worden. Voor een PET-lymfoscintigrafie is echter een PET-tracer nodig. In **hoofdstuk 4** wordt de ontwikkeling en preklinische evaluatie beschreven van een nieuwe PET-tracer die geschikt is voor SWK-detectie. Er werd een procedure ontwikkeld voor de koppeling van de positron-emitter zirconium-89 (^{89}Zr , $t_{1/2}=78.4$ uur) aan Nanocoll (^{89}Zr -Nanocoll). Voor een succesvolle koppeling diende het Nanocoll eerst gemodificeerd te worden met het bifunctionele chelaat *p*-isothiocyantobenzylferrioxamine B (Df-Bz-NCS). Hierna bleek koppeling van ^{89}Zr aan het gemodificeerde Nanocoll op een efficiënte manier mogelijk te zijn, waarbij een stabiel product met een radiochemische zuiverheid van meer dan 95% verkregen werd. Metingen met een *atomic force*-microscop lieten zien dat de koppelingsprocedure geen effecten had op de grootte van de Nanocoll-deeltjes. Er waren geen verschillen met $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanocoll wat betreft de resultaten van de kwaliteitscontroles. Voor preklinische in vivo validatiestudies werd gebruik gemaakt van een lymfogeën metastaserend tumormodel in konijnen wat uitermate geschikt is voor SWK-studies. Informatie over distributie van de tracer werd verkregen via beeldvorming, waarbij conventionele lymfoscintigrafie werd vergeleken met PET-lymfoscintigrafie. PET met ^{89}Zr -Nanocoll toonde een vergelijkbaar drainagepatroon met conventionele lymfoscintigrafie. De resolutie van PET met ^{89}Zr -Nanocoll was echter hoger: (tussenliggende) lymfevaten konden driedimensionaal zichtbaar gemaakt worden, waardoor beter een onderscheid kon worden gemaakt tussen de SWK en lymfeklieren van een hoger echelon. Naast de beeldvorming werden biodistributie-studies uitgevoerd op verschillende tijdstippen na co-injectie van $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - en ^{89}Zr -Nanocoll. Hierbij werd een vergelijkbare opname van de tracers in de SWK gevonden

($R^2=0.99$).

Omdat bij de kwaliteitstesten en het in vivo gedrag geen verschillen werden gevonden tussen ^{89}Zr - en $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanocoll, en omdat ^{89}Zr -Nanocoll geproduceerd kan worden volgens *Good Manufacturing Practice* (GMP), kon een klinische pilotstudie gestart worden. **Hoofdstuk 5** beschrijft de resultaten van deze studie, waarin vijf patiënten met een mondholtecarcinoom zowel de standaard SWK-procedure met $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanocoll (100 MBq) en conventionele lymfoscintigrafie waaronder SPECT/CT ondergingen als de nieuwe procedure met ^{89}Zr -Nanocoll PET. Eén week voorafgaand aan de standaard procedure werd rondom de tumor ^{89}Zr -Nanocoll (1-2 MBq) geïnjecteerd, waarna direct een dynamische PET/CT-scan werd gemaakt, en een PET/CT-scan na 24 uur herhaald werd. De resultaten van de PET/CT en SPECT/CT werden met elkaar vergeleken op het gebied van SWK-identificatie en tracer-distributie. Opnieuw werd een vergelijkbaar drainagepatroon gezien voor beide tracers, waarbij PET/CT afbeeldingen van een hogere resolutie gaf en identificatie van additionele SWK-en nabij de injectieplaats (mondbodem) mogelijk maakte. Bij sommige patiënten konden met PET/CT (tussenliggende) lymfevaten zichtbaar worden gemaakt, en bij één van de patiënten leidde dit tot betere differentiatie tussen de SWK en een lymfeklier van een hoger echelon. De resultaten van deze pilotstudie tonen de potentie van de klinische toepassing van PET met ^{89}Zr -Nanocoll.

Een andere mogelijkheid voor het verbeteren van het de intraoperatieve identificatie van de SWK, naast het gebruik van innovatieve camera's zoals de *freehand* SPECT, is het gebruik van nabij-infrarood (NIR)-fluorescente beeldvorming. NIR-fluorescente beeldvorming kan gebruikt worden voor de detectie van oppervlakkig gelegen fluorescent gelabelde structuren. Op dit moment is er slechts één NIR-fluorescente stof die klinisch gebruikt wordt bij de SWK-procedure: indocyanine groen (ICG). ICG heeft echter als nadeel dat het slechts beperkte retentie heeft in de SWK waardoor het alleen van toegevoegde waarde kan zijn tijdens een korte tijd na injectie. In **hoofdstuk 6** worden de ontwikkeling, karakteristieken en preklinische evaluatie van een nieuwe NIR-fluorescente tracer met optimale eigenschappen voor SWK-detectie beschreven. Eén van de geschiktste fluorescente stoffen van dit moment, IRDye800CW, werd gekoppeld aan Nanocoll: Nanocoll-IRDye800CW. Koppeling, opnieuw volgens GMP, resulteerde in een zuiver en stabiel product, waarbij de grootte van de Nanocoll-deeltjes wederom onveranderd bleek. De kwantum *yield*, een maat voor de hoeveelheid fluorescentie, was vergelijkbaar met dat van ICG gemengd met humaan serum albumine (ICG/HSA). Preklinische in vivo validatie in het lymfogeën metastaserend tumormodel in konijnen liet optimale retentie van Nanocoll-IRDye800CW zien, tot minstens 24 uur na injectie, hetgeen superieur bleek ten opzichte van de retentie van ICG/HSA. Niet-invasieve, NIR-fluorescente detectie van de SWK was goed mogelijk en excisie van de SWK op geleide van NIR-fluorescente beeldvorming toonde een zeer hoog contrast tussen de fluorescerende SWK en de omliggende structuren. Op basis van deze resultaten kan Nanocoll-IRDye800CW beschouwd worden als een veelbelovende NIR-fluorescente tracer voor SWK-detectie.

Hoewel de resultaten van de SWK-procedure bij kleine mondholtecarcinomen over het algemeen goed zijn, kunnen verfijningen leiden tot verbetering van de procedure. Met de introductie van de nieuwe PET-tracer ^{89}Zr -Nanocoll zouden SWK-en die dicht bij de primaire tumor liggen gemakkelijker

geïdentificeerd moeten kunnen worden, waardoor de SWK-procedure nog betrouwbaarder wordt. Technieken om de SWK met daarin ^{89}Zr -Nanocoll tijdens de operatie te detecteren zullen nog ontwikkeld of verder onderzocht moeten worden. Voorbeelden zijn een mobiele fotonen-probe die geschikt is voor detectie van 511 keV-gammastralen, een mobiele β -probe die de positronen (β^+ -deeltjes) detecteert, het gebruik van NIR-fluorescente beeldvorming met bijvoorbeeld Nanocoll-IRDye800CW als optimale fluorescente tracer of combinaties van deze technieken.

Nadelen van PET/CT-beeldvorming zijn de hoge kosten en de beperkte beschikbaarheid van PET/CT-scanners. Goede patiëntselectie is hierbij van groot belang: ^{89}Zr -Nanocoll lijkt met name waarde te hebben bij patiënten van wie bekend is dat de SWK dicht bij de tumor ligt. Op dit moment is ^{89}Zr -Nanocoll de enige beschikbare tracer voor SWK-detectie zonder $^{99\text{m}}\text{Tc}$ met exact hetzelfde in vivo gedrag als $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanocoll, waardoor ^{89}Zr -Nanocoll het enige betrouwbare alternatief lijkt te zijn voor $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanocoll. Dit kan belangrijk worden in het geval dat er een tekort ontstaat aan $^{99\text{m}}\text{Tc}$, een zorg die recentelijk (wereldwijd) geuit werd. Tot slot is het gebruik van ^{89}Zr -Nanocoll en Nanocoll-IRDye800CW niet beperkt tot mondholtecarcinomen; deze kunnen bij ieder tumortype ingezet worden waarbij de SWK-procedure wordt toegepast.

Verbeteren van de behandelingsmogelijkheden en de ontwikkeling van *targeted therapies*

In deel twee van de inleiding (**hoofdstuk 1**) wordt de toevoeging van systemische selectieve therapieën (*targeted therapies*) aan de huidige behandelingsmogelijkheden van hoofd-halskanker beschreven. *Targeted therapies* hebben als doel om gericht de tumor te bestrijden door middel van selectieve *targeting*, waarbij gezond weefsel gespaard moet blijven. Deze middelen hebben in theorie de potentie om de prognose van de patiënt te verbeteren. Tot op heden blijkt echter dat de ontwikkeling van nieuwe antikankermiddelen, waaronder *targeted therapies*, zeer inefficiënt verloopt en enorm hoge kosten met zich meebrengt. Slechts 10% van de middelen die klinisch worden getest bereikt uiteindelijk de markt. Daarom is het van groot belang dat in een vroege fase van de geneesmiddelenontwikkeling klinische informatie verkregen wordt over de uiteindelijke toepasbaarheid van dit middel. In **hoofdstuk 7** wordt de allereerste klinische *microdosing* (fase 0)-studie beschreven waarin immuno-PET gebruikt wordt om informatie te verkrijgen over de biodistributie, farmacokinetiek en selectieve tumor-*targeting* van het anti-angiogenese mini-antilichaam F16SIP, gericht tegen het *extradomain* A1 van tenascin-C. F16SIP wordt beschouwd als een veelbelovend antilichaam voor antilichaamgebaseerde therapeutische antikankerstrategieën. In deze studie met slechts 4 patiënten werd een microdosis F16SIP gelabeld met jodium-124 (^{124}I , $t_{1/2}=100.4$ uur) zodat (immuno-)PET-beeldvorming mogelijk was. Er was beperkte interpatiënt-variabiliteit en duidelijke selectieve tumor-*targeting* in alle vier de patiënten. De tumor-bloedratio was ongeveer 8 gemeten op 5-7 dagen na injectie van het antilichaam. De conclusie van deze studie was dan ook dat verdere klinische evaluatie van F16SIP verantwoord is.

Immuno-PET kan beschouwd worden als één van de betrouwbaarste methoden om veelbelovende antilichamen in een zeer vroeg stadium van klinische ontwikkeling te selecteren voor verdere evaluatie. Met immuno-PET kan op deze manier efficiënte selectie van deze veelbelovende nieuwe antilichamen

plaatsvinden, waardoor de kosten van de geneesmiddelenontwikkeling verlaagd kunnen worden. Daarnaast kan op basis van de gegevens verkregen uit fase 0 immuno-PET-studies geanticipeerd worden op eventuele bijwerkingen waardoor de veiligheid van patiënten in klinische fase I-studies beter gewaarborgd kan worden. Toekomstige fase 0 immuno-PET-studies zullen moeten laten zien of dit soort studies inderdaad zal leiden tot een snellere en efficiëntere ontwikkeling van geneesmiddelen.